

ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN

Nuevo sustrato para la aclimatización de vitroplantas de caña de azúcar

New substrate for the acclimatization of sugarcane vitroplants

Emma Pineda Ruiz, Fidel Acosta Hernández^(†), Irenaldo Fernández Denis, Dunia Núñez Jaramillo, Ana Rosa Hernández Freires, Osmany de la C. Aday Díaz, Zenaida Occeguera Águila, Pablo Machado Armas, Mayra Jiménez Vázquez, Edel Toledo Rodríguez y Rafael Más Martínez

Estación Territorial de Investigaciones de la Caña de Azúcar. ETICA Centro Villa Clara. Autopista Nacional km 246, Ranchuelo, Villa Clara, Cuba. Código postal 53100.

E-mail: emma.pineda@inicavc.azcuba.cu

RESUMEN

El sustrato empleado en la fase de aclimatización es determinante para alcanzar plantas de calidad. Pueden ser materiales sólidos y porosos de origen natural o sintético que, solos o combinados, garantizan un adecuado crecimiento de las plantas bajo condiciones ambientales controladas. El objetivo de este trabajo fue la evaluación de tres variantes de sustratos para esta fase: 80 % de compost y 20 % de zeolita (I); 50 % del tratamiento I más 50 % de residuo sólido obtenido del biogás a partir de vinaza (II) y 100 % del residuo sólido del biogás (III). Se caracterizó la composición química de los sustratos y evaluó el crecimiento de las plantas *in vitro* cada seis días, durante dos meses. Se realizaron las siguientes evaluaciones: supervivencia, número de plantas muertas y número de hojas, a la última evaluación se añadieron: longitud de la raíz, altura y diámetro del tallo, longitud de la hoja +1, número de hojas totales, plagas y enfermedades presentes. El residuo sólido del biogás formado a partir de vinaza, presentó un contenido superior de materia orgánica y macroelementos totales. Este residuo permitió el crecimiento de las plantas *in vitro*, lo que hace factible su uso como sustrato único o mezclado con el compost.

Palabras clave: fase de aclimatización, plantas *in vitro*, sustrato, vinaza

ABSTRACT

The substrate used in the phase of acclimatization is determinant to reach quality plants. They can be solid and porous materials of natural or synthetic origin that alone or mixture guarantee a suitable growth of the plants under environmental controlled conditions. The aim of this work takes root in the evaluation of three variants of substrate for this phase: 80 % of compost and 20 % of zeolite (I); 50 % of the treatment I more 50 % of solid residue obtained of the biogas from vinaza (II) and 100 % of the solid residue of the biogas (III). There was characterized the chemical composition of the substrate. The following evaluations were made: survival, number of dead plants and number of leaves, to the last evaluation were added: root length, stem height and diameter, leaf length +1, number of total leaves, pests and diseases present. The solid residue of the biogas formed from vinaza, presented a top content of organic matter and total macroelements. This

residue allows the growth of the *in vitro* plants and is feasible to use it as substrate only or mixed with the compost.

Keywords: acclimatization phase, *in vitro* plants, substrate, vinaza

INTRODUCCIÓN

La aclimatación *ex vitro* es una etapa fundamental en un protocolo de propagación *in vitro* porque dependen de ella la eficiencia del proceso y la calidad final de las plantas producidas. Esta es la fase más difícil del proceso, cuando las plantas *in vitro* son transferidas del ambiente aséptico y rico en nutrientes del frasco de cultivo para iniciar su desarrollo en condiciones *ex vitro*. Se requiere de condiciones adecuadas y grandes cuidados para que estas no mueran por pérdida excesiva de agua o debido al ataque de patógenos (Thorpe, 2014).

Las plantas *in vitro* en comparación con las que se obtienen en viveros presentan una respuesta diferente en condiciones de invernadero o de campo. Ya que poseen características morfológicas y fisiológicas que las hacen vulnerables en el momento del trasplante. Por esta razón es necesaria la aplicación de técnicas de aclimatación, al pasar de las condiciones *in vitro* a *ex vitro* (Rodríguez *et al.*, 2009).

La eficiencia de la aclimatación *ex vitro* depende, entre otros factores, de la elección del sustrato y la obtención de una relación adecuada entre los componentes de la mezcla que asegure un buen crecimiento y desarrollo de las plantas en estas condiciones de cultivo. El mismo deberá permitir la formación de un cepellón con una buena estructura (Cortegaza, 2013). Para la elaboración de sustratos se utilizan materiales de disponibilidad local, tales como compost obtenido de los restos de caña de azúcar (cachaza)

la industria (Díaz *et al.*, 2004), la zeolita y el residuo sólido de biogás. El objetivo de este trabajo radica en la evaluación del residuo sólido del biogás como alternativa de sustitución del compost de cachaza.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se desarrolló en el área destinada a la fase de aclimatación (umbráculo), perteneciente a la biofábrica de caña de azúcar, ubicada en la Estación Territorial de Investigaciones de la Caña de Azúcar (ETICA Centro Villa Clara), donde se estableció un experimento siguiendo un diseño completamente al azar.

Los tratamientos evaluados fueron: Sustrato I: Mezcla de 80 % de compost y 20 % de zeolita (control); Sustrato II: Mezcla de 50 % del sustrato I más 50 % de residuo sólido obtenido del biogás a partir de vinaza y Sustrato III: 100 % del residuo sólido del biogás obtenido en la Unidad Empresarial de Base (UEB) “Heriberto Duquesne” de Villa Clara.

Se utilizaron plantas *in vitro* del cultivar de caña de azúcar C90-469 con 15 días de cultivo en medio de cultivo de enraizamiento propuesto por Jiménez *et al.* (1997). Las plantas *in vitro* se trasplantaron a bandejas plásticas de 60 alveolos con capacidad cada uno para 143 cm³ de sustrato. Estas permanecieron en condiciones de umbráculo, cubierto con una malla sombra de color negro (Sarán) que permitió la reducción al



Figura 1. Bandejas plásticas con las diferentes mezclas de sustrato antes y después de la plantación con plantas *in vitro* de caña de azúcar (*Saccharum* spp.) del cultivar C90-469

50 % de la intensidad luminosa, la frecuencia de riego con microaspersores fue de dos veces al día durante 5 minutos.

Por cada tratamiento se establecieron 240 repeticiones (cuatro bandejas con 60 plantas *in vitro* cada una) (Figura 1).

Los sustratos utilizados fueron caracterizados para conocer su composición química. Se les determinó: pH; contenido de materia orgánica y macroelementos totales (nitrógeno, fósforo y potasio). Los métodos empleados fueron los siguientes: Método potenciométrico (pH); Método de Walkey-Black (combustión húmeda) para la determinación de materia orgánica y Método de Kjeldahl para nitrógeno, fósforo y potasio total. Nitrógeno con recogida en ácido bórico y mezcla de indicadores; fósforo por colorimetría con formación del complejo amarillo metavanadato - molibídico y potasio total por fotometría de llama (INICA, 2015).

Las plantas *in vitro*, durante el tiempo que duró el experimento, se atendieron según el manual de procedimientos establecido (Montes *et al.*, 2011). A los 15 días del trasplante se realizó una evaluación de supervivencia y a los 45 días de cultivo, fueron seleccionadas 60 plantas por tratamiento para evaluar el número de hojas, longitud de la raíz, altura y diámetro del tallo, largo de la hoja +1, número de hojas totales. Además de la presencia de la enfermedad roya parda (*Puccinia melanocephala* H. y P. Sydow) con el uso de la escala establecida por Alfonso *et al.* (2000).

Análisis estadístico

Los datos de las variables analizadas fueron procesados, con el empleo del paquete estadístico *Statistica* versión 8. Para el análisis de la normalidad de las variables se utilizó la prueba de Shapiro Wilk, la comparación entre las medias fue a través de la alternativa paramétrica del Análisis de Varianzas y las diferencias se determinaron con la prueba Duncan para $p < 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización química de los sustratos

Ambos sustratos presentaron un pH neutro, elevado contenido de materia orgánica y adecuados contenidos de macroelementos totales (Tabla 1). Se destaca que el sustrato propuesto (residuo sólido del biogás) supera en todos los indicadores determinados al empleado tradicionalmente en la biofábrica, o sea, al compost de cachaza. Estos resultados coinciden con lo informado por Arzola *et al.* (2013) en la caracterización del compost producido de la cachaza de caña de azúcar y de la vinaza, material que da origen al nuevo sustrato en la presente investigación.

Efecto del tipo de sustrato en la aclimatización

Para las variables supervivencia y hojas activas no se detectaron diferencias significativas entre tratamientos (Trat.), lo que se traduce a una respuesta similar de las plantas *in vitro* con el uso de los diferentes sustratos. El porcentaje de supervivencia tuvo valores entre un 89,4 al 91,5 %. Sin embargo, para el resto de las variables evaluadas (longitud de la raíz, altura y diámetro del tallo, número de hojas totales y longitud de la hoja +1) existieron diferencias significativas (Tabla 2).

Igualmente, el tratamiento III resultó el de mayor altura del tallo. Mientras que en lo referente al diámetro, el tratamiento I (control) mostró los valores más bajos, lo que puede ser debido a que el sustrato obtenido a partir del residuo sólido del biogás y la vinaza, presenta una mejor composición de nutrientes. Este permitió que las plantas alcanzaran mayor grosor que es un indicador del estado de vigor de una planta, muestra de la fortaleza y resistencia que puede tener al ser trasplantada a campo. Las características físico-químicas de este sustrato, brindaron las mejores condiciones para su desarrollo.

Respecto a la variable altura de la planta, Jucal-Otiniano *et al.* (2006) informaron que el compost

Tabla 1. Caracterización de los sustratos para la aclimatización *ex vitro* de la caña de azúcar (*Saccharum* spp) (base masa seca)

Sustrato	pH	(%)			
		MO	N	P	K
Compost de cachaza	6,5	24,15	1,04	0,25	0,30
Residuo sólido del biogás	6,9	34,15	2,00	0,60	0,44

MO: Contenido de Materia Orgánica

Tabla 2. Efecto de los diferentes sustratos y sus mezclas en el crecimiento de las plantas *in vitro* de caña de azúcar cv. C90-469 a los 60 días en condiciones de aclimatización *ex vitro*

Tratamiento	Longitud de raíz (cm)	Altura (cm)	Diámetro del Tallo (cm)	Hojas Totales	Longitud de hoja +1 (cm)
I	10,80 b	11,36 c	0,42 b	6,50 b	11,35 c
II	10,97 b	17,31 b	0,82 a	7,38 a	17,31 b
III	12,90 a	21,51 a	0,76 a	7,13 a	21,51 a
C.V.	0,18	0,30	0,37	0,17	0,30

Tratamientos **I**: Mezcla de 80 % de compost y 20 % de zeolita (control); **II**: Mezcla de 50 % del sustrato I más 50 % de residuo sólido obtenido del biogás a partir de vinaza y Sustrato **III**: 100% del residuo sólido del biogás

Medias con letras no comunes dentro de la misma columna difieren estadísticamente según prueba de Duncan para $p < 0,05$ (n=60) C.V. Coeficiente de Variación

solo o en mezcla es favorable pues activa los procesos microbiológicos, fomentando simultáneamente su estructura, aireación y capacidad de retención de humedad. Del mismo modo, actúa como regulador de la temperatura, retarda la fijación de ácidos fosfóricos minerales, haciendo que el fósforo sea más asimilable. Según Cortegaza (2013) la eficiencia de la etapa de aclimatización *ex vitro* depende, entre otros factores, de la elección del sustrato y de la obtención de una relación adecuada entre los componentes de la mezcla que asegure una buena supervivencia en el trasplante.

Para la variable número de hojas totales se obtuvieron los mejores resultados en los tratamientos (II y III) donde se utilizó el sustrato de biogás 100 % o en mezcla, sin diferencias

significativas entre ellos, pero si con el control. Este efecto pudiera relacionarse con la composición nutritiva del mismo según señaló Arzola, *et al.* (2013). En lo referente a la longitud de la hoja +1, (tejido indicador para diferentes evaluaciones y análisis en caña de azúcar), mostró diferencias significativas entre tratamientos resultando el tratamiento III con los mayores valores.

Evaluación fitosanitaria

Se detectó la enfermedad roya parda con el grado 1 de severidad (hasta un 5 % del área foliar afectada en la hoja +3) en todos los casos. La reacción hospedante patógeno fue moderadamente resistente a esta enfermedad, algo característico en este cultivar (Figura 2).



Figura 2. Presencia de manchas en las hojas provocadas por la roya parda (*P. melanocephala*) en plantas *in vitro* de caña de azúcar (*Saccharum* spp) cv. C90-469 a los 60 días en condiciones de aclimatización *ex vitro*

CONCLUSIONES

Resulta factible el uso de las variantes de sustrato evaluadas en la Fase de Aclimatación en plantas de caña de azúcar del cultivar C90-469.

Las plantas climatizadas *ex vitro* en el sustrato que consistió en el 100 % del residuo sólido del biogás a partir de la vinaza, mostraron mayor desarrollo en la longitud de la raíz, la altura del tallo, su diámetro así como la longitud de la hoja +1 y el número de hojas totales, indicadores favorecidos por las variantes de sustratos propuestas.

BIBLIOGRAFÍA

- ALFONSO, I., CORNIDEZ, M., RODRÍGUEZ, J., OJEDA, E. Y VALLINA, J. 2000. Sistema evaluativo de la resistencia a las principales enfermedades de la caña de azúcar en Cuba. *Roya (Puccinia melanocephala y H.P. Sydow)*. *Revista Cuba y Caña*, (2): 33-42.
- ARZOLA, N., FUNDORA, O., DE MELLO, R. 2013. Manejo de suelos para una agricultura sostenible. 509 p., ISBN: 978-85-61848-11-8.
- CORTEGAZA, L. 2013. Guía para la micropropagación *in vitro* de caña de azúcar. Memoria del Congreso Internacional Diversificación, 40 p.
- DÍAZ, L., MEDINA, L., LATIFE, J. Y DIGONZELLI, P. 2004. Aclimatación de plantas micropropagadas de caña de azúcar utilizando el humus de lombriz. INTA. Argentina, *RIA*, 33 (2): 115-128, ISSN 0325-8718.
- INICA. 2015. Manual de prácticas de laboratorio y campo. Instituto de Investigaciones de la Caña de Azúcar, 242 p.
- JIMÉNEZ, E., GARCÍA, L., SUÁREZ, M. Y ALVARADO, Y. 1997. Instructivo técnico para la micropropagación de la caña de azúcar. Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas. Santa Clara, Cuba. 119 p.
- JUCAL-OTINIANO, A., MENESES-FLORIÁN, L., BLAS-SEVILLANO, R. Y BELLO-AMEZ, S. 2006. La materia orgánica, importancia y experiencias de su uso en la agricultura. *IDESIA*, 24 (1): 46-61.
- MONTES DE OCA, J., JIMÉNEZ, M., MACHADO, P., OCCEGUERA, Z., BERNAL, A., NODARSE, O., SANTANA, I., *et al.* 2013. Manual para el manejo agronómico de vitroplantas de caña de azúcar (*Saccharum spp*) en bancos de semilla básica o registrada. Cuba, 30 p.
- RODRÍGUEZ, R. 1999. Desarrollo de sustratos para vitroplantas en fase de aclimatación. Trabajo de Diploma. Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Santa Clara, Cuba, 36 p.
- THORPE, T. 2014. History of Plant Tissue Culture. *Methods in Molecular Biology*, En: LOYOLA-VARGAS, V.M. y VÁZQUEZ-FLOTA, F. (Eds). *Plant Cell Culture Protocols*, Second Edition, Totowa, 411 p.

Recibido el 3 de mayo de 2017 y aceptado el 4 de junio de 2018